

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP05/004043

International filing date: 09 March 2005 (09.03.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP  
Number: 2004-068782  
Filing date: 11 March 2004 (11.03.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 12 May 2005 (12.05.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

11. 3. 2005

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日                      2 0 0 4 年    3 月 1 1 日  
Date of Application:

出 願 番 号                      特 願 2 0 0 4 - 0 6 8 7 8 2  
Application Number:

パリ条約による外国への出願  
に用いる優先権の主張の基礎  
となる出願の国コードと出願  
番号

The country code and number  
of your priority application,  
to be used for filing abroad  
under the Paris Convention, is

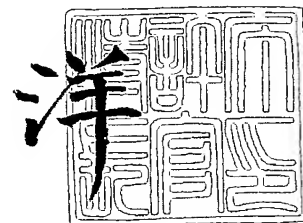
J P 2 0 0 4 - 0 6 8 7 8 2

出      願      人                      財団法人名古屋産業科学研究所  
Applicant(s):

2 0 0 5 年    4 月 2 0 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小 川



【書類名】 特許願  
【整理番号】 P04012  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【国際特許分類】 B25B 9/00  
【発明者】  
    【住所又は居所】 愛知県名古屋市千種区鹿子町 4 丁目 2 1 番地 パーク・ホームズ  
    鹿子町 4 0 2 号室  
    【氏名】 成瀬 恵治  
【発明者】  
    【住所又は居所】 大阪府大阪市東住吉区杭全 8 丁目 7 番 1 7 号  
    【氏名】 石田 敬雄  
【特許出願人】  
    【識別番号】 598091860  
    【氏名又は名称】 財団法人名古屋産業科学研究所  
【代理人】  
    【識別番号】 100095577  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 小西 富雅  
【選任した代理人】  
    【識別番号】 100100424  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 中村 知公  
【選任した代理人】  
    【識別番号】 100114362  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 萩野 幹治  
【手数料の表示】  
    【予納台帳番号】 045908  
    【納付金額】 21,000円  
【提出物件の目録】  
    【物件名】 特許請求の範囲 1  
    【物件名】 明細書 1  
    【物件名】 図面 1  
    【物件名】 要約書 1

**【書類名】 特許請求の範囲****【請求項 1】**

変形可能な材料で形成される矩形箱状の培養器であって、  
底膜及び該底膜の全周縁から立設する側壁を備え、  
対向する側壁には前記底膜の周縁の延長線上に係合部が形成されている培養器。

**【請求項 2】**

係合部の外縁と前記底膜の周縁とが実質的に同一線上に位置する、ことを特徴とする請求項 1 に記載の培養器。

**【請求項 3】**

前記底膜から試料細胞に係止する係止部が形成されている、ことを特徴とする請求項 1 又は 2 に記載の培養器。

**【請求項 4】**

前記底膜と前記側壁とは一体成型され、前記底膜は透光性である、ことを特徴とする請求項 1 ～ 3 のいずれかに記載の培養器。

**【請求項 5】**

変形可能な材料で形成される矩形箱状の培養器であって、  
底膜及び該底膜の周縁から立設する側壁を備え、  
前記底膜から試料細胞に係止する係止部が形成されている培養器。

**【請求項 6】**

前記係止部は突起である、ことを特徴とする請求項 5 に記載の培養器。

**【請求項 7】**

前記突起はポラスである、ことを特徴とする請求項 6 に記載の培養器。

**【請求項 8】**

変形可能な試料細胞培養膜を有し、該試料細胞培養膜から試料細胞に係止する係止部が形成されている、培養器。

【書類名】明細書

【発明の名称】培養器

【技術分野】

【0001】

本発明は試料細胞へ応力を発生させつつこれを培養する培養器に関する。

【背景技術】

【0002】

試料細胞に応力を発生させつつこれを培養すると、この応力が刺激となって培養される細胞に特定の変化が生じることが知られている。

従来から、培養試料細胞へ応力をかけるための方法が提案されている。

例えば試料細胞を乗せた容器の底膜を吸引することによりこれを変形させ、もって試料細胞へ応力を発生させる技術が特許文献1～3に開示されている。

【0003】

本発明者らは培養器底膜を吸引装置により変形させる方式では試料細胞へ均等に応力をかけることが困難であると考え、培養器の底膜と平行な方向の引っ張り力を当該培養器へ加える方式に着目してその検討を進めてきた（非特許文献1参照）。

この培養器1において、図1に示すように、例えばフィブロネクチンを塗布した厚さ200 $\mu$ mの透光性かつ変形可能な培養膜3に試料細胞を乗せ、培養膜3の対向する一对の辺には（厚さ：400 $\mu$ m）側壁5、5が設けられる（非特許文献1参照）。厚い側壁5を用いるのは試料細胞を乗せた培養膜3を均一に伸展させるためである。

【0004】

図1において側壁5には係合孔7が形成されている。

この係合孔7へ伸展装置10のピン（図示せず）が挿入される。

伸展装置10は、図2に示すように、固定プレート11、可動プレート13、ステップモータ15及び制御装置17を備えてなる。

固定プレート11及び可動プレート13には所定の位置にピンが形成されており、各ピンへ培養器1の係合孔7が嵌合される。可動プレート13はステップモータ15の回転に応じて固定プレート11との距離が変化する。これにより培養器1の培養膜3が伸展し、もって試料細胞に応力がかけられることとなる。ステップモータ15の回転は制御装置17により制御されている。

【0005】

本件発明に関連するものとして、特許文献1～6も参照されたい。

【0006】

【特許文献1】米国特許第4789601号公報

【特許文献2】米国特許第4822741号公報

【特許文献3】米国特許第4839280号公報

【特許文献4】特開2003-61642号公報

【特許文献5】米国特許第6107081号公報

【特許文献6】国際公開WO02/46365号公報

【非特許文献1】Involvement of SA channels in orienting response of cultured endothelial cells to cyclic stretch, the American Physiological Society, 1998, H1532-1538, KEIJI NARUSE et al.

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

上記図1に示した培養器を用いても細胞に所望の応力を加えることが可能であった。

しかしながら、昨今の細胞培養の分野においてはより精緻に制御された条件下での研究開発が求められている。そこで本発明者らは、細胞へより均一に応力をかけるべく培養器の検討を進めてきた。

従って、この発明の第1の目的は細胞へ極めて均一な応力をかけられる培養器を提案す

ることにある。

この発明の他の目的は細胞の再生などに適した広い面積の培養器において細胞へ均一に応力をかけられる培養器を提案することにある。

【課題を解決するための手段】

【0008】

この発明は上記課題の少なくとも一つを解決すべくなされた。即ち、変形可能な材料で形成されている矩形箱状の培養器であって、底膜及び該底膜の全周縁から立設する側壁を備え、対向する一对の前記側壁には前記底膜の周縁の延長線上に係合部が形成されている培養器。

【発明の効果】

【0009】

このように構成された培養器によれば、試料細胞をのせる底膜の全周から側壁が立設されているので、底膜が無秩序に変形し試料細胞に予定外の応力がかかることを防止できる。また、伸展装置の力がかかる係合部は剛性の高い側壁において底膜の伸び方向の周縁の延長線上にあるので、底膜を均一に伸張させることができる。すなわち、底膜を伸張させるとき、伸び方向の周縁はその中央がくぼむように変形しがちであるが、係合部を介して当該周縁へ直接的に力を付加することにより、当該変形を防止することができる。これにより、底膜上の試料細胞へ均一な応力をかけられることとなる。

【0010】

この発明の他の局面によれば、底膜から係止部を設けてこの係止部に試料細胞が係止するようにした。底膜と試料細胞との間にすべりが生じると底膜が均一に伸張しても試料細胞へ均一に応力がかからないおそれがある。

ここに、底膜に係止部を設けてこれを試料細胞へ係止させれば底膜と試料細胞とのすべりを未然に防止することができる。よって、均一に伸張された底膜により試料細胞へ均一に応力をかけられることとなる。かかる係合部を複数設けることにより底膜（培養膜）の面積が広がってもその全範囲において底膜－試料細胞間のすべりを防止できる。かかる広い面積の培養膜は細胞の再生用として好適である。

【発明の実施の形態】

【0011】

以下、この発明の各要素について詳細に説明する。

この発明の一つの局面では培養器として矩形箱型のものを用いた。培養器を矩形箱型とすることにより消耗品である培養器の運搬及び保管が容易になる。

かかる培養器は変形可能な材料で形成されている。これは、培養器を伸展することにより間接的に試料細胞へ応力をかけるためである。

培養器の形成材料としてシリコンエラストマーなどの試料細胞へ化学的に干渉しないものが用いられる。

【0012】

底膜は平面視矩形として、均一に伸展するように全体が同じ膜厚に形成されることが好ましい。光学顕微鏡で試料細胞を観察可能なように底膜は光透過製材料で形成されることが好ましい。

底膜の全周から側壁を立設させることが好ましい。側壁を厚膜としてこれに機械的な剛性を付与する。これにより、底膜が無秩序に変形することを防止できる。

底膜と側壁とは一体であることが部品点数削減、ひいては製造コスト削減の見地から好ましいが、底膜と側壁とを別体にするものを制限するものではない。

【0013】

矩形底膜の対向する一对の縁に設けられた側壁には係合部が設けられている。この係合部が伸展装置の固定プレート、及び移動プレートと係合すればよい。これにより、相對位置を制御可能な当該2つの部材の位置変化が培養器を変形させることとなる。

したがって、側壁から突起を設けてこれをプレートに係合させることもできる。2つの

プレートと共に変動させることも可能である。

#### 【0014】

底膜が伸張されたとき当該伸張方向の周縁はその中央部が窪むように変形する。このような変形が生じると変形部分上の試料細胞にかかる応力の方向が他の部分のものと異なってしまう。

そこでこの発明の係合部は、矩形底膜の伸張方向の周縁の延長線上に形成される。これにより、係合部に加えられた力が当該底膜の伸張方向の周縁へ加わり、これが確実に引っ張られる。よって、当該周縁の変形が防止され、もって底膜上の全試料細胞へ均一な応力をかけられることとなる。

この発明の培養器に使用される試料細胞の種類及び入手方法は特に限定されるものではない。例えば、血管内皮細胞（ヒト・サル・ブタ・ウシ・ラット・マウス・ウサギなど）、平滑筋細胞、心筋細胞、骨格筋細胞、線維芽細胞、骨芽細胞、軟骨細胞、破骨細胞、神経細胞などを使用することができる。

#### 【実施例1】

##### 【0015】

以下、この発明を実施例に基づいて更に詳細に説明する。

図2はこの実施例の培養器21を示し、図2はその斜視図、図3(A)は平面図、図3(B)は正面図、図3(C)は底面図、図3(D)は右側面図である。なお、左側面図は図3(D)と同じであるため省略した。図4は図3(A)におけるA-A線断面図である。図5は使用態様図である。

実施例の培養器21は透明なシリコンエラストマーで型成形された箱型であり、薄い底膜23と底膜23の周縁から一体的に立設した側壁25、26からなる。底膜23は約100 $\mu$ m若しくは約200 $\mu$ mの膜厚であり、側壁25は約1cm、側壁26は約2mmの厚さである。側壁25には係合孔27が形成されている。

底膜23の表面には細胞を着床させるためにフィブロネクチンやコラーゲンなどが塗布される。

##### 【0016】

図5には、実施例の伸展装置30を示す。この伸展装置30において固定プレート31はレール板36に固定され、可動プレート33はレール板36上に摺動自在に載置される。固定プレート31、可動プレート33からはそれぞれピン32、34が突設され、培養器21の係合孔27へ挿入される。

可動プレート33はロッドを介してステップモータ35の回転に伴い図示矢印方向へ移動する。符号37はステップモータ35の回転を制御する制御装置であり、実施例ではコンピュータ装置を用いた。

ステップモータ35を回転させて可動プレート33を固定プレート31から離隔する方向に移動させると、ピン34を介してその力が培養器21の側壁25へ伝達される。これにより、底膜23が周縁24の延長線方向へ伸張される。

##### 【0017】

このとき係合孔27は、図3(A)に示すように、底膜23の周縁24、24の延長線上に位置する。より好ましくは、図示のように、当該延長線が係合孔27の外縁部と一致するようにする。これにより、ピン32ーピン34による力が底膜23の周縁24へより直接的にかかることになる。よって、当該周縁24の窪みが防止され底膜23が均一に伸張される。よって、底膜23の上の試料細胞29にかかる応力が均一となる。

#### 【実施例2】

##### 【0018】

図6～図8に他の実施例の培養器41を示す。前の実施例と同一の要素には同一の符号を付してその説明を部分的に省略する。

この実施例の培養器41においては、底膜23から突起43が形成されている。この突起43は試料細胞29へ干渉してこれと底膜23とのすべりを防止する。よって、試料細胞29に対する均一な応力の付加が可能になる。

この突起 4 3 をポーラスにすることにより突起と試料細胞との係止力が向上する。

【0 0 1 9】

突起 4 3 は試料細胞 2 9 へ係止し、これと底膜 2 3 とのすべりを防止するものである。かかる作用は、図 9 (A) に示すような凹部 4 5、図 9 (B) に示すような小さな突起 4 7、図 9 (C) に示すような溝 4 9 でも達成できる。これらの凹部 4 5、突起 4 7、溝 4 9 は底膜 2 3 の周縁 2 4 に対して交差する方向（好ましくは直交する方向）に連続していても、また非連続であってもよい。

【0 0 2 0】

この実施例では矩形箱型の培養器における培養膜である底膜へ係止部を設けたが、培養器の形状構造は特に限定されるものではない。例えば、吸引により変形されるタイプの培養膜へ当該係止部を設けることもできる。

【0 0 2 1】

この発明は、上記発明の実施の形態及び実施例の説明に何ら限定されるものではない。特許請求の範囲の記載を逸脱せず、当業者が容易に想到できる範囲で種々の変形態様もこの発明に含まれる。

【図面の簡単な説明】

【0 0 2 2】

【図 1】 図 1 は従来例の培養器とその伸展装置を示す。

【図 2】 図 2 はこの発明の実施例の培養器の斜視図である。

【図 3】 図 3 は同じく実施例の培養器を示し、(A) は平面図、(B) は正面図、(C) は底面図、(D) は右側面図である。

【図 4】 図 4 は図 3 における A-A 線断面図である。

【図 5】 図 5 は実施例の培養器の使用態様を示す断面図である。

【図 6】 図 6 はこの発明の他の実施例の培養器の斜視図である。

【図 7】 図 7 は同じく実施例の培養器を示し、(A) は平面図、(B) は正面図、(C) は底面図、(D) は右側面図である。

【図 8】 図 8 は図 7 における A-A 線断面図である。

【図 9】 図 9 は底膜に形成される係止部の変形態様を示す。

【符号の説明】

【0 0 2 3】

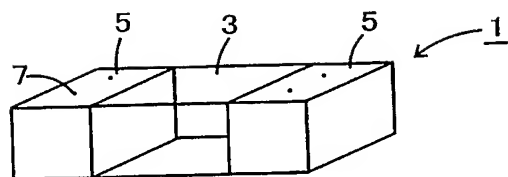
- 1、2 1、4 1 培養器
- 2 3 底膜
- 2 4 周縁
- 2 5、2 6 側壁
- 2 7 係合孔
- 2 9 試料細胞
- 4 3 突起



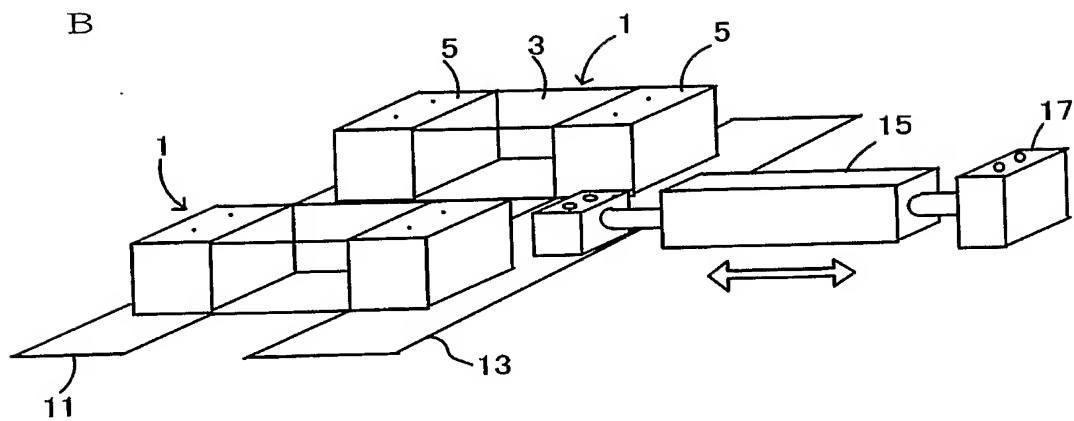
【書類名】 図面

【図 1】

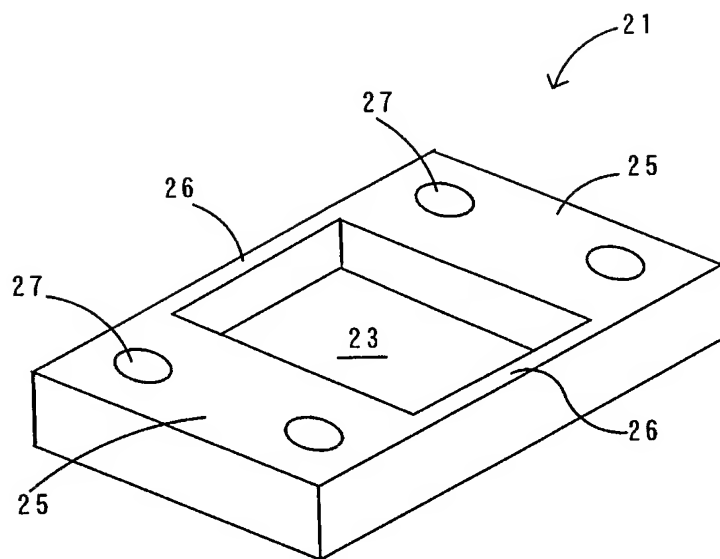
A



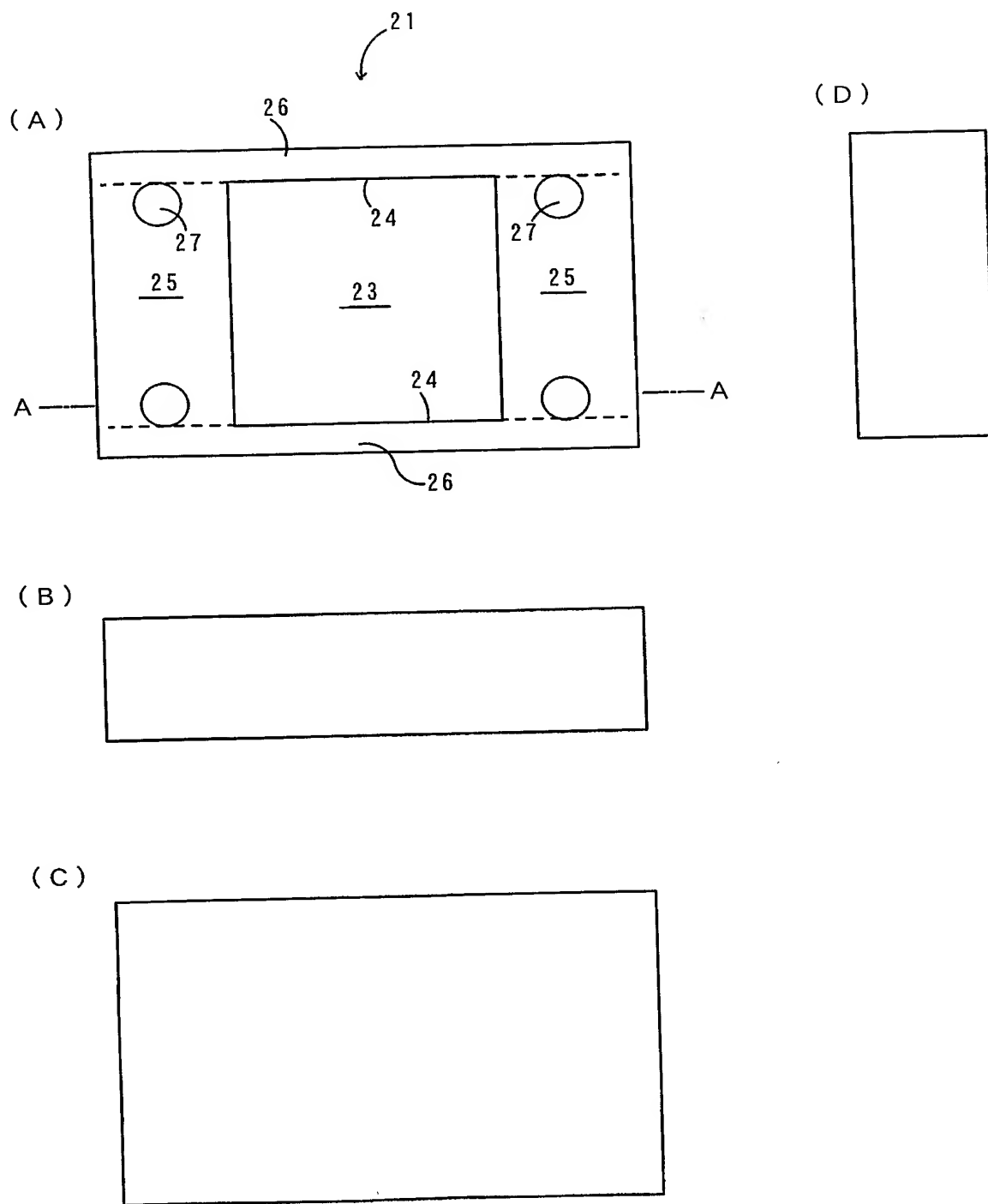
B



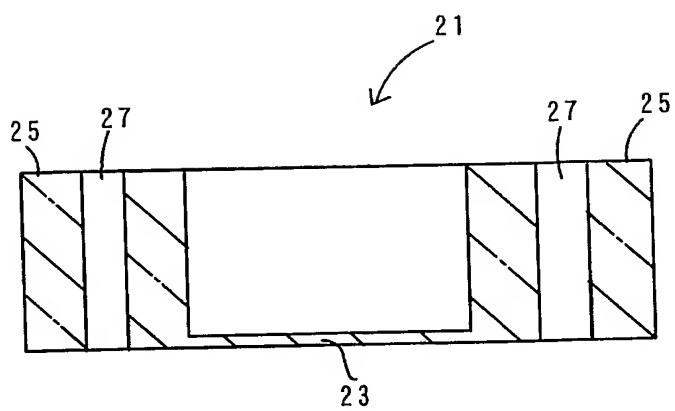
【図 2】



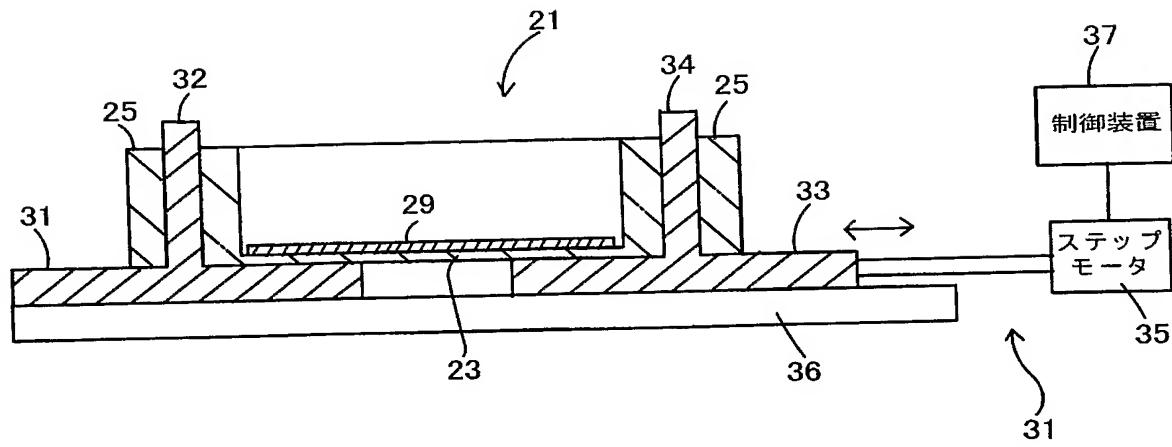
【図 3】



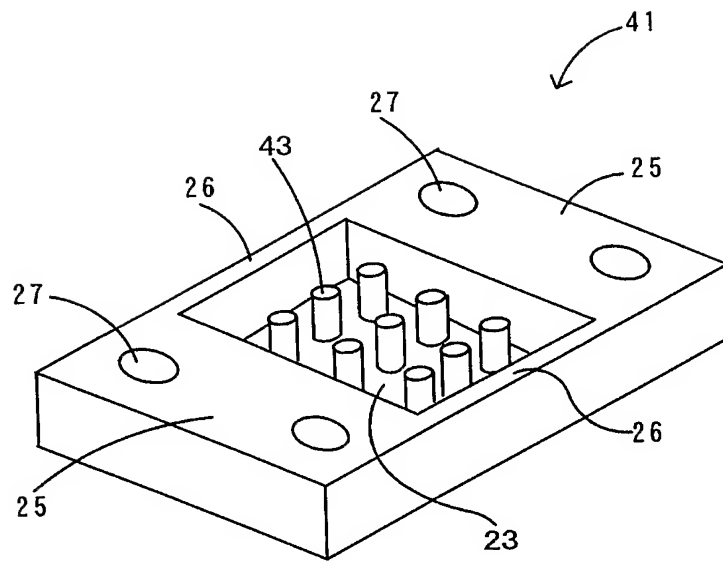
【図 4】



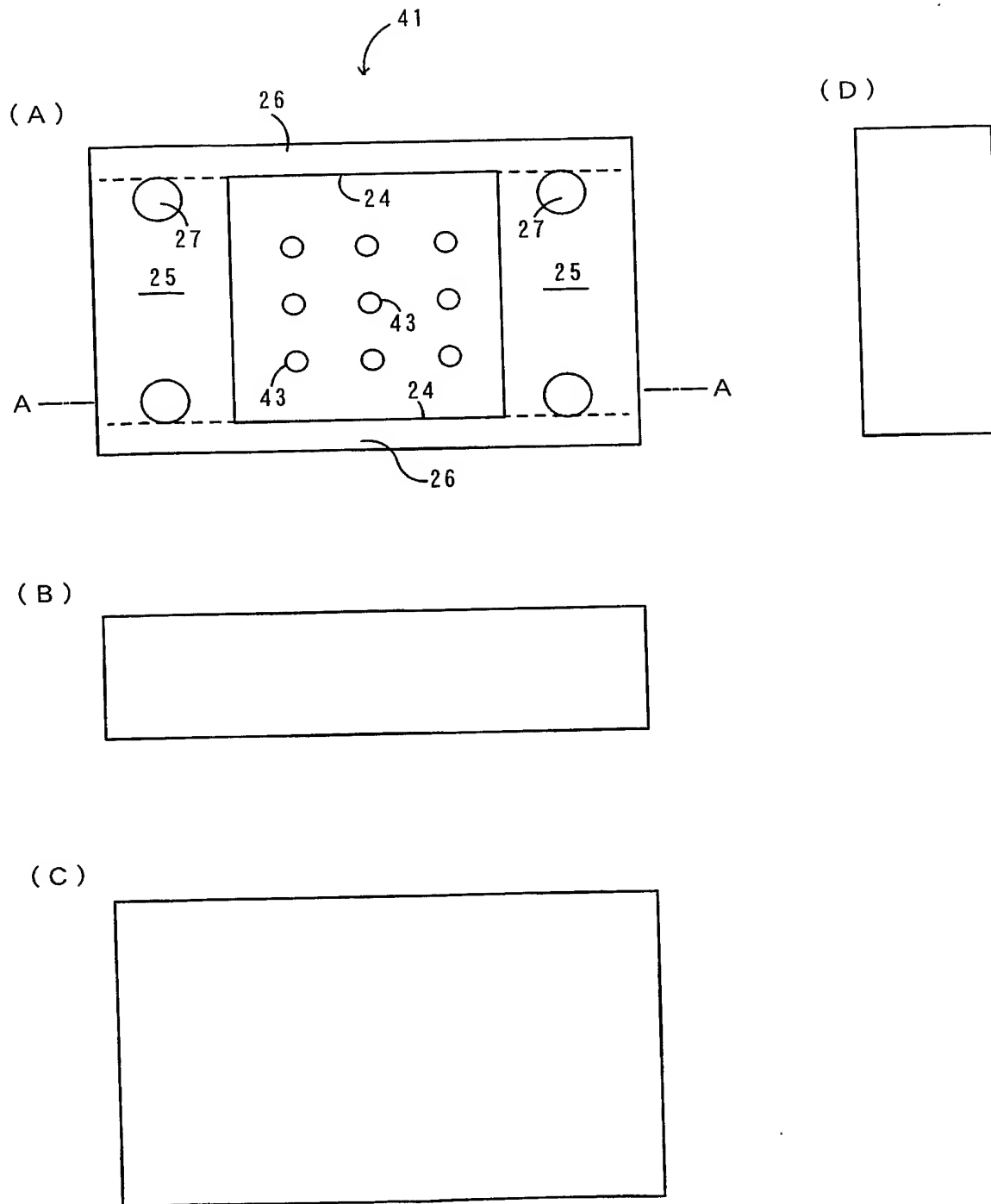
【図 5】



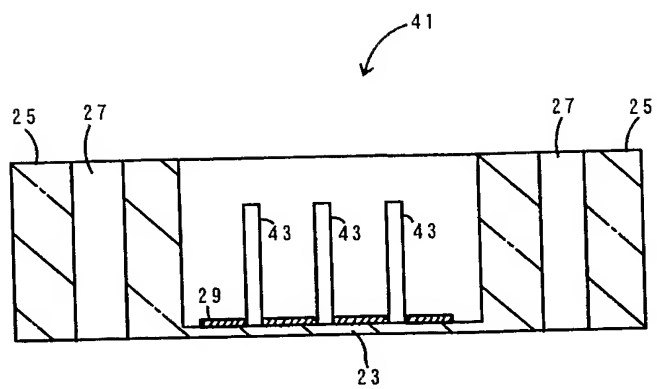
【図 6】



【図 7】

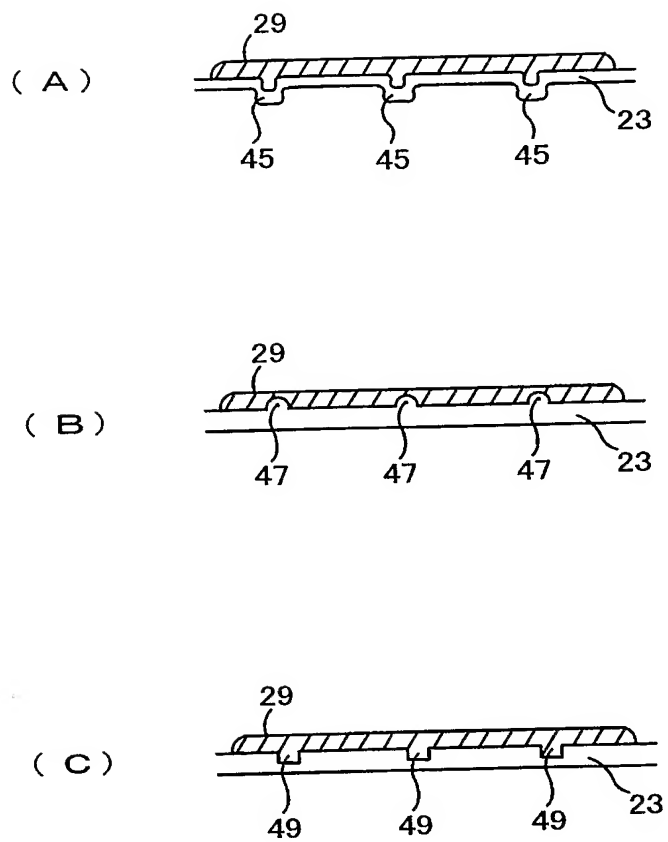


【図 8】





【図 9】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 細胞へ均一に応力をかけられる培養器を提案する。

【解決手段】 変形可能な材料で形成されている矩形箱状の培養器であって、底膜及び該底膜の全周縁から立設する側壁を備え、対向する一对の側壁には底膜の周縁の延長線上に係合部が形成されている。

細胞の培養膜へ係止部を設け、当該係止部へ細胞に係止させることにより培養膜を伸展したときに培養膜と細胞とのすべりを防止する。

【選択図】 図 2

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 4 - 0 6 8 7 8 2
受付番号	5 0 4 0 0 4 0 1 9 1 6
書類名	特許願
担当官	第三担当上席 0 0 9 2
作成日	平成 1 6 年 3 月 1 2 日

< 認定情報・付加情報 >

【提出日】 平成 16 年 3 月 11 日

特願 2 0 0 4 - 0 6 8 7 8 2

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 5 9 8 0 9 1 8 6 0 ]

1. 変更年月日

1 9 9 8 年 7 月 9 日

[変更理由]

新規登録

住 所

愛知県名古屋市中区栄二丁目 1 0 番 1 9 号

氏 名

財団法人名古屋産業科学研究所